

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

RODRIGO FANTIN ALVES MARTINS

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DOIS GENÓTIPOS DE CRAMBE
(*Crambe abyssinica* HOCHST.) AO DÉFICIT HÍDRICO**

VITÓRIA
2015

RODRIGO FANTIN ALVES MARTINS

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DOIS GENÓTIPOS DE CRAMBE
(*Crambe abyssinica* HOCHST.) AO DÉFICIT HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto

VITÓRIA
2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M386r Martins, Rodrigo Fantin Alves, 1984-
Respostas fisiológicas de dois genótipos de Crambe
(*Crambe abyssinica* Hochst.) ao déficit hídrico / Rodrigo Fantin
Alves Martins. – 2015.
47 f. : il.

Orientador: Antelmo Ralph Falqueto.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Plantas - Efeito da seca. 2. Clorofila. 3. Ecofisiologia
vegetal. 4. Fluorescência. I. Falqueto, Antelmo Ralph, 1979-. II.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

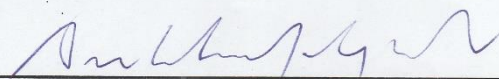
RODRIGO FANTIN ALVES MARTINS

**“RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DOIS GENÓTIPOS DE CRAMBE
(*Crambe abyssinica* HOCHST.) AO DÉFICIT HÍDRICO”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 16 de Julho de 2015.

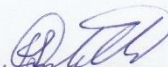
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES
Orientador



Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES
Examinador Interno



Prof. Dr. Fábio Luiz Partelli
Ceunes - ES
Examinador Externo

Dedico à minha mãe,
Conceição, que sempre investiu em
minha educação e formação com
muita luta e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a espiritualidade pelo Dom da vida e pelas experiências fantásticas que ela tem me proporcionado.

Ao Professor Antelmo Ralph Falqueto, por acreditar em mim e me proporcionar a oportunidade de ser, mais uma vez, seu orientado.

Aos meus familiares que contribuíram para a concretização dessa experiência fantástica, meus tios Cláudio Gonçalves e Aparecida Gonçalves e minhas primas Raiane Gonçalves e Igraine Gonçalves. Muito obrigado por me receber e me hospedar em seu lar!

Ao amigo André Felipe Costa Souza, pela ajuda inestimável durante o experimento e pela amizade que construímos para além dos muros da Ufes.

A grande amiga/irmã Veronica D'Addazio pelo companheirismo, apoio e pelas palavras de ânimo.

Aos demais amigos de laboratório Jadson B. Zampirolo, Thais Silva Costa e Lourdes Marcarini. Obrigado por proporcionar um local de trabalho alegre e descontraído. Vocês são fantásticos!

Ao Clodoaldo Leites Pinheiro, pela leitura do manuscrito deste trabalho e pelas sugestões dadas.

Aos companheiros de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV/UFES), por todos os momentos compartilhados, pela troca de conhecimento e pela amizade desenvolvida.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV/UFES).

Aos docentes do PPGBV/UFES por compartilhar comigo o conhecimento necessário para que eu chegasse até aqui.

À Fundação MS, na pessoa do Sr. Carlos Pitol, pelo suporte a essa pesquisa.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia e ao CNPq pelo fornecimento da bolsa de estudo.

À equipe da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES) pelo suporte técnico e metodológico.

Ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (CEUNES/UFES) por todo o suporte necessário à execução desse trabalho.

À equipe do Laboratório Agrônomo de Análise de Solo, Folha e Água (LAGRO) pela ajuda com a análise e correção do solo utilizado no experimento.

À Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade.

Por fim, à todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

De tudo ficaram três coisas:
A certeza de que estamos começando,
A certeza de que é preciso continuar e
A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar.
Fazer da interrupção um caminho novo,
Fazer da queda um passo de dança,
Do medo uma escola,
Do sonho uma ponte,
Da procura um encontro.

Fernando Sabino

RESUMO

O déficit hídrico é um dos principais fatores que limitam o crescimento vegetal e a produtividade agrícola. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do déficit hídrico e recuperação em plantas de *Crambe abyssinica* Hochst, utilizando a fluorescência da clorofila *a* como ferramenta de análise. As plantas da cultivar FMS Brilhante e da linhagem FMS CR1101 foram submetidas ao déficit hídrico pela suspensão da irrigação durante sete dias, seguidos por um período de três dias de reidratação. Para a análise da fluorescência da clorofila *a* folhas jovens completamente expandidas foram selecionadas e adaptadas ao escuro por 20min. As medidas da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas utilizando-se um fluorômetro Handy-PEA (Hansatech, UK). Medidas do conteúdo relativo de água foliar (CRA), da condutância estomática (g_s) e da biomassa também foram realizadas. Sob déficit hídrico, houve redução do CRA e g_s , com recuperação total após a reidratação das plantas. Observou-se maior crescimento radicular em FMS Brilhante durante o déficit hídrico. Em ambos os materiais genéticos observou-se redução no transporte de elétrons a partir da absorção até a redução dos aceptores do intersistema. No entanto, no sétimo dia de déficit hídrico, observou-se, em FMS Brilhante, aumento no sinal de fluorescência apenas entre os pontos F_J e F_I , indicando a diminuição no transporte de elétrons entre a Q_A e o intersistema. A cultivar FMS Brilhante apresentou melhor conectividade energética (Banda L) entre as subunidades independentes do fotossistema II (FSII) e menor inativação do complexo de evolução de oxigênio (Banda K). Por outro lado, a linhagem FMS CR1101 apresentou melhores resultados para os parâmetros que medem o rendimento quântico da redução dos aceptores finais de elétrons do fotossistema I, FSI (ϕ_{RO}), a eficiência com que um elétron se move após a Q_A^- (ψ_{EO}) e a eficiência com que um elétron proveniente do intersistema reduz oceptor final de elétrons do FSI (Δ_{RO}). A linhagem apresentou, também, melhores resultados para o índice de desempenho fotoquímico (PI_{total}) durante o período de reidratação. Apesar das plantas de FMS Brilhante terem apresentado maior crescimento radicular e melhor atividade fotoquímica do FSII, a linhagem apresentou melhor incremento da atividade fotoquímica do FSI.

Palavras chave: Fotossistema II, Fluorescência da clorofila *a*, Teste – JIP, Tolerância ao déficit hídrico, Recuperação.

ABSTRACT

Drought stress is one of the main environmental factors that limit growth and yield of plants. The objective of this study was to evaluate and compare the effects of induced drought stress and recovery in *Crambe abyssinica* Hochst plants using chlorophyll *a* fluorescence as an analytical tool. The plants of the cultivar FMS Brilhante and lineage FMS CR1101 were subjected to water stress by withholding water for seven days, followed by a period of three days of rehydration. For the analysis of chlorophyll *a* fluorescence, fully expanded young leaves were selected and adapted to the dark for 20 min. Fluorescence measurements of chlorophyll *a* was performed using a Handy-PEA fluorometer. Were also made measures of the relative leaf water content (RWC), the stomatal conductance (g_s) and biomass. Under drought stress, there was a reduction in the relative leaf water content (RWC) and stomatal conductance (g_s), with full recovery after rehydration of plants. There was more root growth in FMS Brilhante during the imposition of water deficit. Both materials showed a decrease in the transport of electrons from the absorption until the reduction of the intersystem acceptors. However, on the seventh day of water deficit was observed in FMS Brilhante, increase in fluorescence signal only between F_J and F_I steps, indicating the decrease of electron transport between Q_A and intersystem. The cultivar FMS Brilhante showed better energy connectivity (L-band) between independent subunits of photosystem II (PSII) and less inactivation of the complex evolution of oxygen (K-band). On the other hand, the lineage FMS CR1101 showed better results for the parameters that measure the quantum yield of the reduction of the final acceptor of photosystem 1 (FSI) (ϕ_{RO}), the efficiency with which an electron moves after Q_A^- (ψ_{EO}) and the efficiency with which an electron from the intersystem reduces the final acceptor of FSI (Δ_{RO}). The lineage showed also better results for the photochemical performance index (PI_{total}) during the rehydration period. Despite FMS Brilhante plants have presented higher root growth and better photochemical activity of PSII, the lineage showed better increment of photochemical activity of the FSI.

Keywords: Photosystem II, Chlorophyll *a* fluorescence, JIP-test, Drought tolerance, Recovery.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Imagens do experimento instalado na casa de vegetação da fazenda experimental do Ceunes/Ufes, com plantas de crambe, cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101.....	18
Figura 2 - Conteúdo relativo de água e condutância estomática em folhas de <i>C. abyssinica</i> cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101 submetidas ao déficit hídrico e recuperação.....	24
Figura 3 - Cinética da emissão da fluorescência da clorofila <i>a</i> entre os passos 0 e P em folhas de <i>C. abyssinica</i> adaptadas ao escuro, cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101 expostas ao déficit hídrico e reidratação.....	25
Figura 4 - Diferença cinética de V_{OK} [$\Delta V_{OK} = V_{OK(\text{tratamento})} - V_{OK(\text{controle})}$] evidenciando a banda L e a diferença cinética de V_{OJ} [$\Delta OJ = V_{OJ(\text{tratamento})} - V_{OJ(\text{controle})}$] evidenciando a banda K em plantas de FMS Brilhante e FMS CR1101.....	27
Figura 5 - Fluorescência relativa variável entre F_0 e F_I [$V_{OI} = (F_t - F_0)/(F_I - F_0)$] V_{OI} no intervalo de tempo entre 30 e 300 μ s e diferença cinética de V_{OI} [$\Delta V_{OI} = V_{OI(\text{tratamento})} - V_{OI(\text{controle})}$] em plantas de <i>C. abyssinica</i> , cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101 sob condições de estresse hídrico progressivo e recuperação.....	28
Figura 6 - Fluorescência variável entre os pontos I e P [$V_{IP} = (F_t - F_I)/(F_P - F_I)$] e diferença cinética de V_{IP} [$\Delta V_{IP} = V_{IP(\text{tratamento})} - V_{IP(\text{controle})}$] em plantas de <i>C. abyssinica</i> , cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101 sob condições de estresse hídrico progressivo e recuperação.....	29
Figura 7 - Parâmetros do teste JIP em plantas de <i>C. abyssinica</i>	31

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	14
2 – OBJETIVOS	17
2.1 – Objetivo geral	17
2.2 – Objetivos específicos	17
3 – MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 – Material vegetal	18
3.2 – Experimento piloto	18
3.3 – Experimento principal	19
3.3.1 – Condições de cultivo	19
3.3.2 – Correção e adubação do solo	19
3.4 – Tratamento de déficit hídrico	21
3.5 – Metodologia geral	22
3.5.1 – Conteúdo relativo de água foliar	22
3.5.2 – Condutância estomática	22
3.5.3 – Fluorescência da clorofila <i>a</i> (O-J-I-P)	23
3.5.4 – Produção de matéria seca	24
3.5.5 – Determinação da área foliar	24
3.6 – Análise estatística	24
4 – RESULTADOS	25
4.1 – Conteúdo relativo de água (CRA)	25
4.2 – Condutância estomática (g_s)	25
4.3 – Fluorescência transiente da clorofila <i>a</i>	26
4.4 – Parâmetros do teste JIP	32
4.5 – Produção de matéria seca e área foliar	34
5 – DISCUSSÃO	35
6 – CONCLUSÕES	42
7 – REFERÊNCIAS	43

1 – INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes do crescimento vegetal e da produtividade agrícola em regiões com baixa distribuição pluviométrica (VAN-HEERDEN et al., 2007; CAMPOS et al., 2014). A redução do crescimento e da produção ocorre em resposta às alterações em diversos processos metabólicos, dentre eles a condutância estomática, a transpiração, a eficiência de transporte de elétrons nos tilacóide e as reações de assimilação do carbono, os quais reduzem-se em condições de limitada disponibilidade de água (WASEEM et al., 2011; CLAEYS; INZÉ, 2013). As respostas das plantas ao estresse hídrico envolvem, normalmente, estratégias para se evitar e/ou tolerar a escassez hídrica, que variam de acordo com a espécie ou genótipo da planta (CHAVES, 2002).

O fechamento estomático é uma das primeiras respostas das plantas ao déficit hídrico (CHAVES et al., 2003; POULSEN et al., 2012). O controle estomático durante o déficit hídrico tem por objetivo limitar a transpiração foliar e, assim, proteger a planta da perda de água extensiva que pode causar a desidratação celular e morte da planta (CHAVES et al., 2003; KOOYERS, 2015). No entanto, a diminuição da abertura estomática tem como consequência a redução na assimilação de CO₂ pelas plantas e, conseqüentemente, a inibição do metabolismo fotossintético que, por sua vez, resulta na redução da produtividade vegetal (FLEXAS et al., 2004; LAWSON; BLATT, 2014; KOOYERS, 2015).

A capacidade da planta em realizar as trocas gasosas é dada pela condutância estomática (g_s). O fechamento estomático em resposta ao déficit hídrico provoca a diminuição da condutância estomática e, quando essa situação é combinada com a manutenção ou o aumento da energia de irradiância incidente sobre a folha, ocorre um desequilíbrio energético entre a taxa de produção de ATP e NADPH na fase fotoquímica da fotossíntese e o seu consumo pelo Ciclo de Calvin-Benson (CHAVES et al., 2003; PINHEIRO; CHAVES, 2011). Nesta situação, a regulação da fotossíntese e a fotoinibição tornam-se poderosos mecanismos de defesa limitando potenciais danos à maquinaria fotossintética (CHAVES et al., 2003, 2009; SOUZA et al., 2004; PINHEIRO; CHAVES, 2011).

A produtividade vegetal é determinada pela capacidade da planta em produzir fotoassimilados para o seu crescimento e desenvolvimento (CLAEYS; INZÉ, 2013). Desse modo, a tolerância das plantas ao déficit hídrico relaciona-se ao quão eficientemente elas conseguem manter seu mecanismo fotossintético ativo quando confrontadas com a diminuição do seu *status* hídrico (CHAVES, 2002).

A luz absorvida pelos fotossistemas pode ser utilizada para as reações fotossintéticas ou dissipada na forma de calor e/ou emissão de fluorescência (KRAUSE; WEIS, 1991). Assim, alterações estruturais e funcionais do aparato fotossintético de plantas submetidas ao déficit hídrico podem ser estimadas pela análise dos sinais da fluorescência da clorofila *a* devido à sua conexão com os processos envolvidos na conversão da energia luminosa para uma forma química estável (STIRBET; GOVINDJEE, 2011).

A cinética da fluorescência da clorofila *a* é amplamente utilizada em estudos com organismos fotossintéticos por fornecer informações detalhadas sobre a estrutura e funcionalidade do aparato fotossintético (STRASSER et al., 2000; OUKARROUM et al., 2007; GONÇALVES et al., 2010; ZUSHI et al., 2012; LI; GONG, 2012; CHEN et al., 2015). Com respeito ao déficit hídrico, a análise da fluorescência da clorofila *a* tem sido utilizada na identificação de possíveis alterações no sistema fotoquímico das plantas, selecionando as espécies, linhagens ou cultivares mais tolerantes ao déficit hídrico (OUKARROUM et al., 2009; WANG et al., 2012; GOMES et al., 2012; CAMPOS et al., 2014). Por exemplo, Jedmowski et al.(2014), utilizaram a análise da fluorescência da clorofila *a* para monitorar os impactos do déficit hídrico na cadeia transportadora de elétrons fotossintética de oito genótipos de cevada. Os autores observaram alterações nos índices de desempenho fotoquímico PI_{abs} e PI_{total} (parâmetros do teste JIP fornecidos pela fluorescência da clorofila *a*) nas plantas submetidas ao déficit hídrico moderado e severo e por meio desta análise ranquearam os genótipos de acordo com o grau de tolerância ao déficit hídrico. Oukarroum et al.(2007) observaram que a tolerância ao déficit hídrico em cultivares de cevada estava relacionada com a conectividade energética das unidades do FSII e com a estabilidade do complexo de evolução de oxigênio, informações fornecidas pela análise da fluorescência da clorofila *a* por meio da normalização dos dados e obtenção das bandas L e K, respectivamente. Pelo exposto, é possível utilizar a análise da

cinética da fluorescência da clorofila *a* como ferramenta para diferenciar a sensibilidade de genótipos ao déficit hídrico, considerando que o uso de materiais genéticos mais tolerantes ao déficit hídrico seja uma alternativa para aumentar a produtividade em regiões com má distribuição pluviométrica (WASEEM et al., 2011; GOMES et al., 2012).

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) é uma planta pertencente à família Brassicaceae, originária da região do Mediterrâneo e cultivada em algumas regiões tropicais e subtropicais (OPLINGER et al., 1991). Planta herbácea anual, possui ciclo de vida curto, de aproximadamente 90 a 100 dias, atingindo o estágio de florescimento após 40 a 50 dias e a maturação das sementes 75 a 90 dias após o semeio (GOLZ, 1993). As plantas de crambe possuem em média 1 m de altura, folhas ovais e assimétricas e flores brancas com boa produção de sementes (OPLINGER et al., 1991; PITOL, 2008). As sementes do crambe possuem alto teor (55 – 60%) de ácido erúico e por isso possui grande interesse industrial (LAZZERI et al., 1994). O crambe é uma planta com uso promissor na fabricação de lubrificantes industriais e inibidores de corrosão podendo, também, ser utilizado como ingrediente na fabricação de borracha sintética, filmes plásticos, plastificantes, nylon, adesivos e isolantes elétricos (LEPPIK; WHITE, 1975; LAZZERI et al., 1994; PITOL, 2008).

O crambe possui grande potencial para ser utilizado, também, na produção de biocombustíveis (COLODETTI et al., 2012). Um aspecto importante é que o óleo de crambe substitui derivados de petróleo na fabricação de muitos produtos e por ser um produto renovável, tem a seu favor um grande apelo ambiental. Além disso, o crambe é inviável para o consumo humano e por isso não concorre com a alimentação humana (COLODETTI et al., 2012). No Brasil, os recentes incentivos do governo federal para a busca de fontes energéticas renováveis e alternativas aos hidrocarbonetos têm alavancado o interesse no cultivo e produção do crambe voltado para a produção de biocombustíveis (VARISCO; SIMONETTI, 2012).

A principal região brasileira produtora de crambe é a Centro-Oeste, onde o cultivo se dá no período entre as safras, conhecida como safrinha, e, por isso, não compete com as principais culturas alimentares. Seu cultivo é totalmente mecanizado utilizando os mesmos implementos agrícolas do cultivo da soja (JASPER et al., 2010). A cultivar FMS Brilhante é a mais utilizada nas lavouras de crambe no Brasil. No

entanto, há a necessidade de criar novos materiais genéticos visando o aumento do potencial produtivo do crambe. Nesse sentido, a Fundação Mato Grosso do Sul (Fundação MS) possui um programa de melhoramento de crambe, onde novas linhagens são desenvolvidas buscando o aperfeiçoamento ou o desenvolvimento de cultivares com características favoráveis ao aumento do potencial produtivo atual da cultura (PITOL et al., 2012). Dentre as recentes linhagens desenvolvidas, a FMS CR1101 apresenta características de produção próximas à do cultivar FMS Brilhante (aproximadamente 1691 kg.ha⁻¹ e 1869 kg.ha⁻¹, respectivamente).

Os estudos com o crambe ainda são bastante escassos e são direcionados, sobretudo, ao armazenamento das sementes e sua germinação ou à caracterização e qualidade do óleo (VOLLMANN; RUCKENBAUER, 1993; VARGAS-LOPEZ et al., 1999; TEIXEIRA et al., 2011; MARTINS et al., 2011; VARISCO; SIMONETTI, 2012; LI et al., 2012). De acordo com Werner et al. (2013), existem lacunas no conhecimento do crambe que precisam ser preenchidas para desenvolver a potencialidade dessa cultura.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo geral

2.1.1 – Avaliar as respostas fisiológicas de *Crambe abyssinica* Hochst. (cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101) ao déficit hídrico.

2.2 – Objetivos específicos

2.2.1 – Avaliar o conteúdo relativo de água (CRA) e a condutância estomática (g_s) na cultivar FMS Brilhante e na linhagem FMS CR1101 submetidos ao déficit hídrico.

2.2.2 – Comparar o impacto do déficit hídrico sobre a cinética da fluorescência da clorofila *a* na cultivar FMS Brilhante e na linhagem FMS CR1101.

2.2.3 – Avaliar alterações no ganho de matéria seca nas plantas submetidas ao déficit hídrico.

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Material vegetal

As sementes de *Crambe abyssinica* Hochst., cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101, foram fornecidas pela Fundação MS, Maracujá/MS. A FMS Brilhante é a principal cultivar de crambe utilizada no Brasil enquanto FMS CR1101 é uma linhagem com produtividade máxima próxima à da FMS Brilhante, 1691 kg.ha⁻¹ e 1869 kg.ha⁻¹, respectivamente. Ambos os materiais são produzidos pela Fundação MS.

3.2 – Experimento piloto

Previamente ao experimento principal, foi realizado um experimento piloto. Esse experimento foi instalado em casa de vegetação da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES), *campus* da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), município de São Mateus/ES. Utilizando um delineamento inteiramente casualizado, o experimento piloto consistiu no plantio e acompanhamento do crescimento das plantas e posterior exposição ao déficit hídrico com a avaliação da condutância estomática (g_s), fluorescência transiente da clorofila *a* e altura das plantas. Foram utilizados 40 vasos preenchidos com ‘terra vegetal’, substrato adquirido em casa de jardinagem formado pela mistura de terra *in natura* e material orgânico vegetal em decomposição. Dez vasos foram utilizados para cada tratamento e material genético (cultivar e linhagem). Os resultados obtidos foram utilizados para a adequação das condições de cultivo e das metodologias empregadas no experimento principal, tais como: profundidade das sementes no solo, correção do

pH e adubação do solo, idade e estágio das plantas em que se iniciou a imposição do déficit hídrico, tempo médio de imposição ao déficit hídrico e tempo de adaptação das folhas ao escuro para a coleta dos sinais de fluorescência. O experimento piloto teve duração de 45 dias.

3.3 – Experimento principal

3.3.1 – Condições de cultivo

O experimento foi instalado em casa de vegetação da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES), *campus* da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - município de São Mateus/ES. O delineamento foi inteiramente casualizado utilizando 40 plantas da cultivar e da linhagem, totalizando 80 plantas. Cinco sementes de cada material genético foram semeadas em cada vaso de 5,5 L a uma profundidade de aproximadamente 2 cm. Após 15 dias da emergência das plantas realizou-se o desbaste, permanecendo uma planta por vaso. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com luminosidade natural e temperatura média de 25°C. As plantas foram irrigadas diariamente durante as quatro semanas de crescimento por meio de aspersão automática. As plantas foram cultivadas até a idade de 28 dias quando se iniciou a imposição do déficit hídrico. O experimento teve duração de 40 dias contados a partir da semeadura.

3.3.2 – Correção e adubação do solo

O solo utilizado para o cultivo das plantas de crambe foi extraído na fazenda experimental. Subamostras foram coletadas, misturadas e homogeneizadas e



Figura 1 – Imagens do experimento instalado na casa de vegetação da fazenda experimental do Ceunes/Ufes, com plantas de crambe, cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101. (A) aspecto das plantas previamente à imposição ao déficit hídrico e (B) após os sete dias de imposição ao déficit hídrico.

encaminhadas para o Laboratório Agronômico de Análise de Solo, Folha e Água (LAGRO), do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical (PPGAT), CEUNES/UFES, para realização de análise química, por meio da qual foi identificada a necessidade de correção de pH e de adubação.

Para a correção do pH do solo, foram aplicados 7,5 g de calcário dolomítico em 5,5 L do solo. Em seguida, foram aplicados 200 mL de água. A adubação foi realizada seguindo a recomendação de concentrações de nutrientes para adubação básica de um solo proposto por Oliveira et al. (1991). Foram produzidas duas soluções fontes de nutrientes: solução de macronutrientes (N, P, K) e solução de micronutrientes (S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn). Para a solução de macronutrientes, foram utilizados 360g de fosfato de amônio monobásico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) e 229,6g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) diluídos para 2 litros de água destilada. Para a solução de micronutrientes foram utilizados 2,036g de ácido bórico (H_3BO_3), 2,29g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 7,74g de sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 3,38g de sulfato de ferro (FeSO_4), 4,55g de sulfato de manganês (MnSO_4) e 0,845g de molibdato de amônio [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] diluídos para 1 litro de água destilada. Em cada vaso contendo 5,5 L de solo foram aplicados 25 mL e 12,5 mL da solução de macro e micronutrientes, respectivamente. Após a adubação, o solo foi encubado em sacos plásticos de 8 litros durante 55 dias. Os sacos em que o solo ficou encubado foram abertos a cada 2 dias para a liberação do CO_2 .

3.4 – Tratamento de déficit hídrico

Com 30 cm de altura, ainda no estágio vegetativo (Fig. 1A), as plantas foram induzidas aos tratamentos, que consistiram em dois regimes hídricos: condição de controle (plantas irrigadas diariamente) e suspensão total da irrigação. Após sete dias de imposição ao déficit hídrico, quando se observou a perda de folhas e a morte de algumas plantas (Fig. 1B) acompanhada de uma forte redução ($< 50 \text{ mmol/m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) na condutância estomática (g_s), deu-se início à reidratação das plantas visando avaliar a capacidade de recuperação ao déficit hídrico. Todas as avaliações foram realizadas

no período entre 4:30 e 7:00 horas da manhã em folhas jovens e plenamente expandidas (3ª ou 4ª folha a partir do ápice).

3.5 – Metodologia geral

3.5.1 – Conteúdo relativo de água foliar

A avaliação do conteúdo relativo de água (CRA) foliar foi realizada no período da antemanhã (4:30 – 6:00). Cinco plantas de cada tratamento foram selecionadas aleatoriamente. De cada planta retirou-se uma folha da qual foram extraídos cinco discos com 0,78 cm² de área cada. O CRA foi determinado seguindo a metodologia proposta por Barrs e Weatherley (1962). Os cinco discos provenientes da mesma planta foram pesados juntos, imediatamente após serem extraídos das folhas, obtendo-se, assim, a massa fresca do tecido (MF). Em seguida, a massa túrgida (MT) foi obtida hidratando-se os discos foliares por 24 horas em placa de Petri contendo água destilada suficiente para cobri-los. A matéria seca (MS) foi aferida após a secagem dos discos foliares em estufa durante 72 h a 60 °C. As respectivas massas foram determinadas em balança digital de precisão (0,0001 g). O cálculo do CRA foi realizado pela fórmula abaixo e expresso em porcentagem (%).

$$\text{CRA} = [(MF-MS) / (MT-MS)] \times 100$$

3.5.2 – Condutância estomática

As avaliações da condutância estomática (g_s) foram realizadas na face abaxial das folhas de cinco plantas/tratamento utilizando-se um porômetro foliar (SC-1Leaf Porometer, Decagon devices).

3.5.3 – Fluorescência da clorofila *a* (O-J-I-P)

Os sinais de fluorescência foram registrados por meio de um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK) conforme descrito por Strasser & Strasser (1995). Previamente às medidas, as folhas foram adaptadas ao escuro por meio do uso de cliques foliares (Hansatech, UK) durante 20 minutos. A fluorescência O-J-I-P foi induzida pela exposição da folha a um pulso de luz vermelha saturante (650nm, $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) onde os sinais de fluorescência são registrados durante 1s (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008). Os sinais da fluorescência da clorofila *a* ascendem a partir de uma intensidade inicial F_0 (~20 μs ou ~50 μs) até uma intensidade máxima F_P (~300 ms). Entre esses dois extremos existem os pontos intermediários F_J (~2 ms) e F_I (~30 ms) (STRASSER et al., 2000). O aumento dos sinais de fluorescência de F_0 para F_P é o reflexo da rápida redução da quinona A (Q_A). Assume-se que em F_0 todas as Q_A encontrem-se em estado oxidado e todos os centros de reação (CR) estejam abertos. Por outro lado, os sinais de fluorescência em F_P resultam da redução de todas as Q_A e do fechamento de todos os CR's. A intensidade de fluorescência registrada aos 20 μs foi considerada como sendo a fluorescência inicial.

As curvas da fluorescência transiente O-J-I-P foram normalizadas segundo Yusuf et al. (2010), como: fluorescência variável relativa entre os pontos O (20 μs) e P (300 ms) [$V_t = (F_t - F_0)/(F_P - F_0)$]; fluorescência variável relativa entre os pontos O e K (300 μs) [$V_{OK} = (F_t - F_0)/(F_K - F_0)$], entre os pontos O e J (2 ms) [$V_{OJ} = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$], entre os pontos O e I (30 ms) [$V_{OI} = (F_t - F_0)/(F_I - F_0)$] e entre os pontos I e P [$V_{IP} = (F_t - F_I)/(F_P - F_I)$]. Obtida a fluorescência variável ($V_t, V_{OK}, V_{OJ}, V_{OI}, V_{IP}$), calculou-se as diferenças cinéticas entre os tratamentos, $\Delta V = V_{\text{tratamento}} - V_{\text{controle}}$. Os parâmetros do teste JIP avaliados neste estudo foram: o fluxo de energia dissipada por CR em $t = 0$ [$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$]; o rendimento quântico fotoquímico máximo para a fotoquímica primária, $\phi_{P0} = TR_0/ABS = F_v/F_M$ (STRASSER et al., 2005); a probabilidade de um éxciton capturado mover um elétron para além da Q_A^- , $\psi_{E0} = ET_0/TR_0 = 1 - V_J$ (STRASSER et al., 2005); eficiência com que um elétron transportado a partir do intersistema reduz o acceptor final de elétrons do FSI, $\delta_{R0} = RE_0/ET_0 = (1 - V_I)/(1 - V_J)$ (OUKARROUM et al., 2015); o rendimento quântico para a redução dos

aceptores finais do FSI por fóton absorvido, $\phi_{R0} = RE_0/ABS = [1-(F_0/F_M)] \cdot (1-V_i)$ (OUKARROUM et al., 2015) e o índice de desempenho fotossintética a partir da excitação até a redução dos aceptores finais do FSI, $PI_{total} = (RC/ABS) \cdot [\Phi_{P0}/(1-\Phi_{P0})] \cdot [\psi_{E0}/(1-\psi_{E0})] \cdot [\delta_{R0}/(1-\delta_{R0})]$ (STIRBET; GOVINDJEE, 2011).

3.5.4 – Produção de matéria seca

Para avaliar os efeitos do déficit hídrico sobre o crescimento das plantas de crambe, cinco indivíduos de cada tratamento e material genético (cultivar e linhagem) foram selecionados aleatoriamente. Cada indivíduo foi separado em parte aérea e raiz, as quais foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar durante 72 horas a 60°C. As respectivas matérias seca foram determinadas em balança digital de precisão (0,0001 g) e expressas em g.planta⁻¹ (WILSON et al., 1999).

3.5.5 – Determinação da área foliar

A área foliar foi medida utilizando-se um medidor de área foliar (modelo LI-3100C, Li-Cor) em cinco plantas de cada tratamento, selecionadas aleatoriamente. A área foliar foi expressa em cm².planta⁻¹.

3.6 – Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Para os dados de fluorescência foram realizadas 10 repetições e para os demais dados (condutância estomática, CRA e biomassa) foram utilizadas 5 repetições. Os dados das variáveis avaliadas foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software Assistat 7.7.

4 – RESULTADOS

4.1 – Conteúdo relativo de água (CRA)

Houve redução significativa do conteúdo relativo de água nas folhas dos materiais genéticos estudados submetidos à deficiência hídrica (Fig. 2A e 2B). Em FMS CR1101, a redução de CRA foi maior no DH 4 (aproximadamente 50%) comparativamente à cultivar FMS Brilhante, cuja redução observada foi de aproximadamente 30% em relação ao controle (Fig. 2A e 2B). Ambos os materiais genéticos apresentaram valores de CRA muito reduzidos e similares no último dia de déficit hídrico (DH 7) (31% e 29% para a cultivar FMS brilhante e a linhagem FMS CR1101, respectivamente). Um dia após a reidratação das plantas (RC 1), a recuperação dos valores de CRA foi maior para a cultivar FMS brilhante (de 31% a aproximadamente 60%). Total recuperação dos valores de CRA foi observada apenas na cultivar FMS brilhante 3 dias após a reidratação (RC 3) das plantas (Fig. 2A e 2B).

4.2 – Condutância estomática (g_s)

Os valores de condutância estomática (g_s) decresceram significativamente no primeiro dia de supressão hídrica (DH 1) em ambos os materiais analisados (Fig. 2C e 2D). Em FMS CR1101, o menor valor de g_s foi observado 4 dias após a supressão da irrigação (DH 4) e manteve-se constante até o 1º dia de reidratação das plantas, RC 1 (Fig.2D). Os valores de g_s diminuíram gradativamente em FMS Brilhante, com os menores valores ($p \leq 0,05$) obtidos no dia de máximo estresse (DH 7) (Fig. 2C). Além disso, para a linhagem FMS CR1101, observou-se sinais de recuperação de g_s somente 3 dias após a reidratação das plantas (RC 3). O valor da condutância estomática ao final do período de reidratação foi significativamente menor ao das

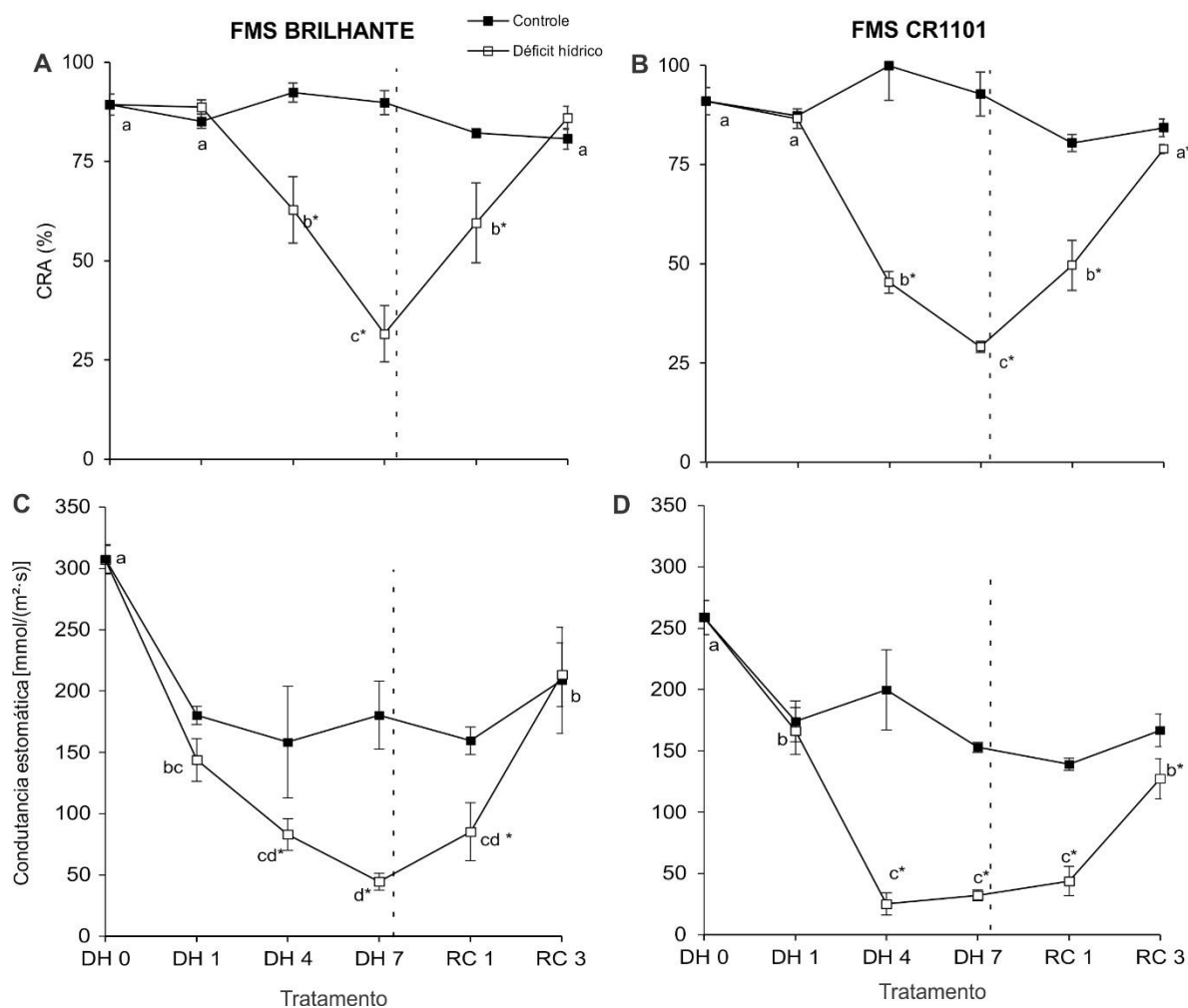


Figura 2 – Conteúdo relativo de água (CRA) e condutância estomática (g_s) de folhas de *C. abyssinica* cultivar FMS Brilhante (A e C) e linhagem FMS CR1101 (B e D) submetidas ao déficit hídrico e recuperação. A linha tracejada indica o final do período de déficit hídrico imposto e o início da reidratação. As siglas DH correspondem aos dias após o início da imposição ao déficit hídrico e RC aos dias após o início da reidratação. Os valores são médias (\pm erro padrão). As letras representam a diferença estatística entre os dias e o asterisco (*) entre os tratamentos (Tukey 5%), $n = 5$.

plantas controle (Fig. 2D). Por outro lado, total recuperação de g_s foi observada ao final do experimento na cultivar FMS Brilhante (Fig. 2C).

4.3 – Fluorescência transiente da clorofila a

Tanto a cultivar quanto a linhagem apresentaram curvas O-J-I-P características, com aumento polifásico a partir de F_0 até F_P , com pontos intermediários F_J e F_I

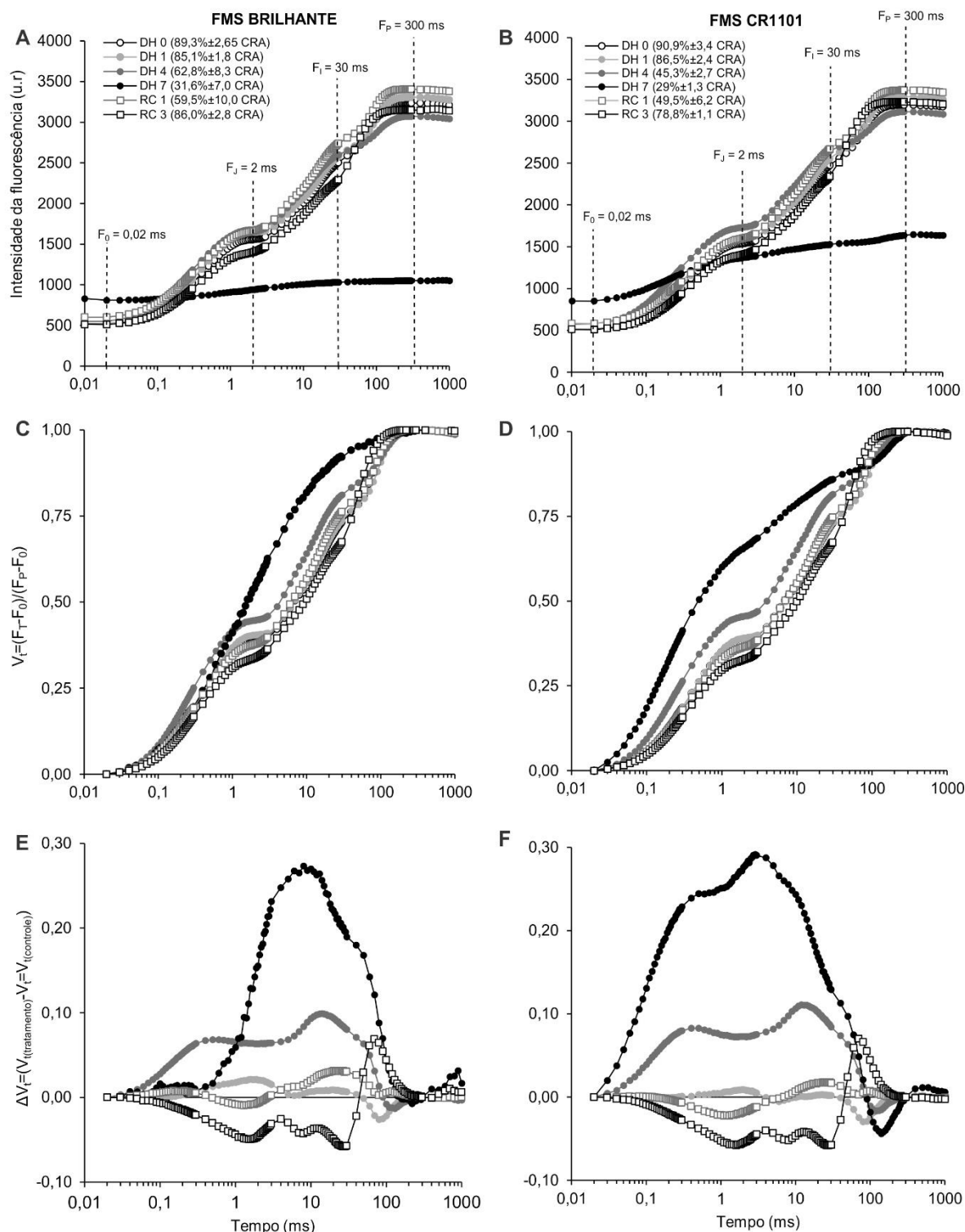


Figura 3 – Cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* entre os passos O e P em folhas de *C. abyssinica* adaptadas ao escuro, cultivar FMS Brilhante (A, C e E) e linhagem FMS CR1101 (B, D e F) expostas ao déficit hídrico e reidratação. (A e B) Intensidade da fluorescência (F_t), as letras O, J, I e P sinalizam o momento em que cada ponto ocorre na curva (20 μ s, 2ms, 30ms e 300ms, respectivamente). (C e D) fluorescência relativa variável $V_t = (F_t - F_0) / (F_P - F_0)$. (E e F) Diferença cinética de V_t : $\Delta V_t = [V_{t(\text{tratamento})} - V_{t(\text{controle})}]$. Os valores são médias, $n = 10$.

definidos (Fig. 3A e 3B). O comportamento das curvas cinéticas da emissão da fluorescência da clorofila *a* foi similar até o 4º dia de déficit hídrico (DH 4). Contudo, no último dia de déficit hídrico (DH 7), observou-se a supressão e inibição das fases O-J-I-P em ambos os materiais, com maior evidência para a cultivar FMS Brilhante (Fig. 3A e 3B).

No dia de máximo estresse (DH 7), observou-se, também, o aumento na fluorescência inicial (F_0) na cultivar FMS Brilhante bem como uma redução dos pontos F_J , F_I e F_P comparativamente aos demais dias de tratamento. Por outro lado, a linhagem FMS CR1101 apresentou, também, um aumento em F_0 aos DH 7, porém F_J manteve-se similar ao observado para os demais dias de tratamento enquanto os pontos F_I e F_P se reduziram (Fig. 3A e 3B). Comparando os materiais entre si, verificou-se maior redução dos pontos F_I e F_P na cultivar FMS Brilhante. Durante o período de reidratação das plantas, observou-se a total recuperação das fases O-J-I-P em todas as plantas.

A fluorescência entre os pontos O e P foi analisada por meio das normalizações $V_t = (F_t - F_0) / (F_P - F_0)$ (Fig. 3C e 3D) e diferença cinética $\Delta V_t = [V_{t(\text{tratamento})} - V_{t(\text{controle})}]$ (Fig. 3E e 3F). Estas normalizações permitem visualizar as diferentes fases O-J, J-I e I-P. V_t declinou nas plantas submetidas ao déficit hídrico e reidratação (Fig. 3C e 3D). As curvas da diferença cinética ΔV_t evidenciaram o aparecimento de bandas positivas durante os dias de imposição ao déficit hídrico. No entanto, em FMS CR1101 a amplitude da curva de fluorescência aumentou a partir de F_0 até F_I enquanto em FMS Brilhante a curva de fluorescência apresentou elevação da amplitude apenas entre F_J e F_I (Fig. 3E e 3F). Tanto FMS Brilhante como FMS CR1101 apresentaram diminuição da fluorescência após F_I . Durante a reidratação, observou-se a total recuperação de V_t tanto na cultivar como na linhagem (Fig. 3E e 3F).

A fluorescência relativa entre os pontos F_0 e F_K [20 e 300 μ s, respectivamente = $V_{OK} = (F_t - F_0) / (F_K - F_0)$] e entre O e J [20 μ s e 2 ms, respectivamente = $V_{OJ} = (F_t - F_0) / (F_J - F_0)$] foi normalizada e apresentada como a diferença cinética $\Delta V_{OK} = V_{OK(\text{tratamento})} - V_{OK(\text{controle})}$ e $\Delta V_{OJ} = V_{OJ(\text{tratamento})} - V_{OJ(\text{controle})}$, respectivamente (Fig. 4). As diferenças cinéticas ΔV_{OK} e ΔV_{OJ} revelam, respectivamente, a banda L (Fig. 4A e 4B) e a banda K (Fig. 4C e 4D). Observou-se o aparecimento da banda L positiva a partir do DH 4 tanto para a cultivar FMS Brilhante como para a linhagem FMS CR1101,

com valores máximos aos DH 7. O aumento da amplitude da banda L em resposta ao déficit hídrico foi mais evidente para a linhagem FMS CR1101 aos DH 4 e DH 7 (aproximadamente 0,06 e 0,15, respectivamente) (Fig. 4B). Sob déficit hídrico, observou-se, também, o aparecimento da banda K com amplitude positiva a partir do DH 4 para ambos os materiais genéticos avaliados. Porém, notou-se que a amplitude positiva da banda K observada para a cultivar FMS Brilhante em DH 7 foi inferior à amplitude observada em DH 4 (Fig.4C). Além disso, notou-se que em FMS CR1101 a amplitude da banda K aumentou de maneira hiperbólica atingindo valores maiores

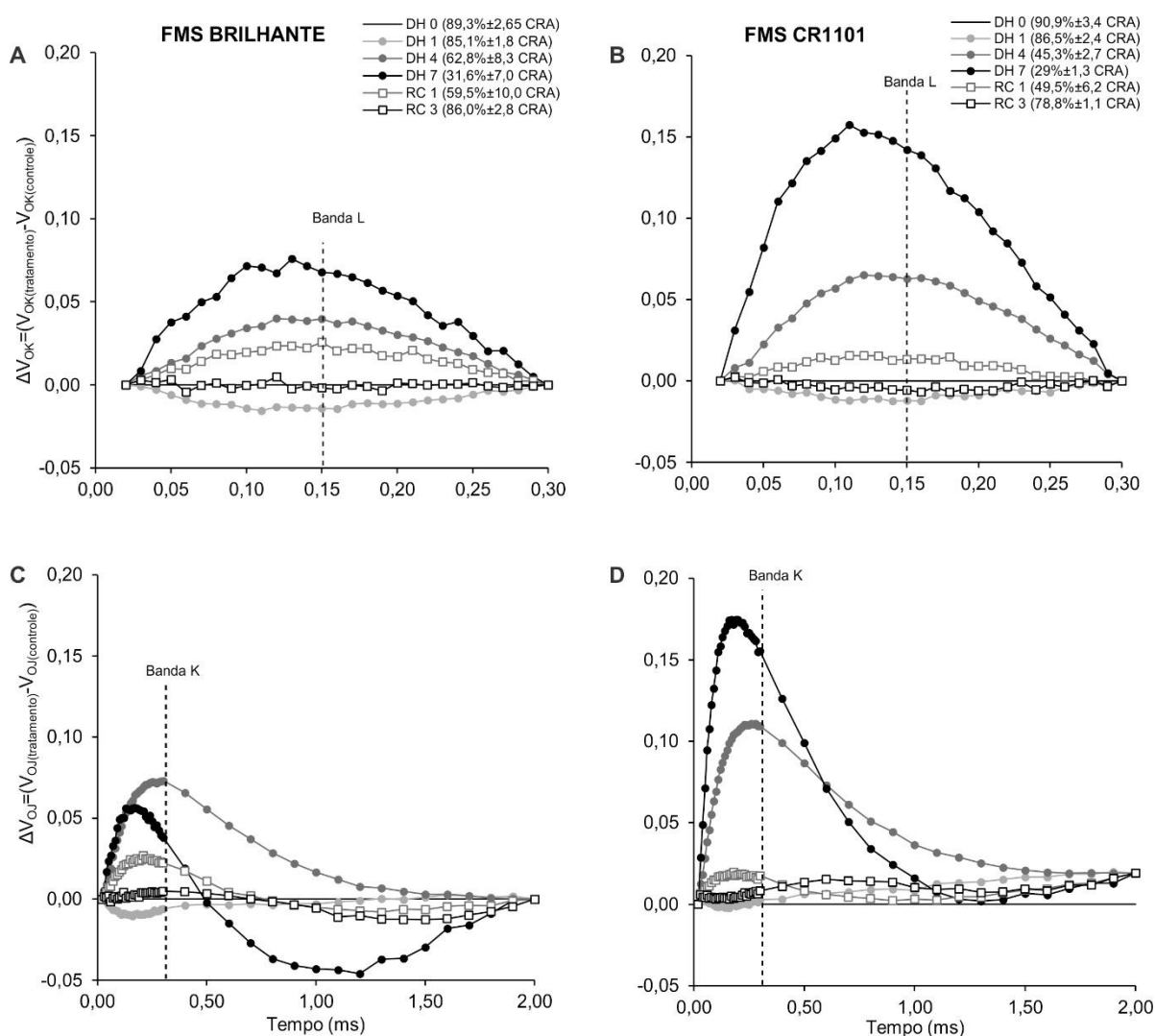


Figura 4 – Fluorescência transiente da clorofila *a* em folhas de *C. abyssinica* adaptadas ao escuro, cultivar FMS Brilhante (A e C) e linhagem FMS CR1101 (B e D) expostas ao déficit hídrico e reidratação. (A e B) diferença cinética de V_{OK} [$\Delta V_{OK} = V_{OK}(\text{tratamento}) - V_{OK}(\text{controle})$] evidenciando a banda L; (C e D) diferença cinética de V_{OJ} [$\Delta V_{OJ} = V_{OJ}(\text{tratamento}) - V_{OJ}(\text{controle})$] evidenciando a banda K. Os valores são médias, $n = 10$.

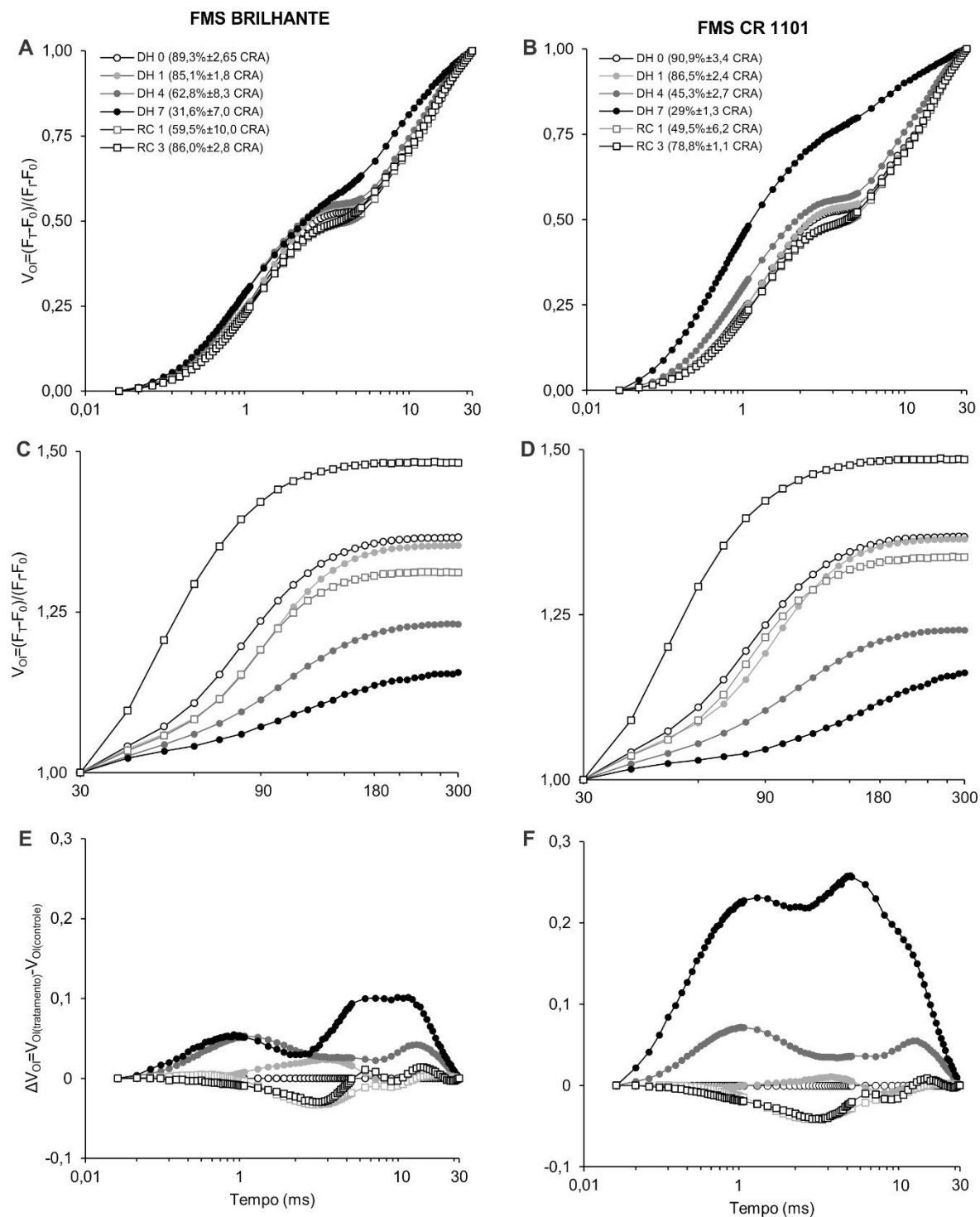


Figura 5 – Cinética da emissão da fluorescência da clorofila *a* entre os pontos O e I em folhas de *C. abyssinica* adaptadas ao escuro, cultivar FMS Brilhante (A, C e E) e linhagem FMS CR1101 (B, D e F) expostas ao déficit hídrico e reidratação. (A e B) Fluorescência relativa variável entre F_0 e F_t [$V_{OI} = (F_t - F_0) / (F_t - F_0)$]. (C e D) V_{OI} no intervalo de tempo entre 30 e 300 μ s. (E e F) Diferença cinética de V_{OI} [$\Delta V_{OI} = V_{OI}(\text{tratamento}) - V_{OI}(\text{controle})$]. Os valores são médias, $n = 10$.

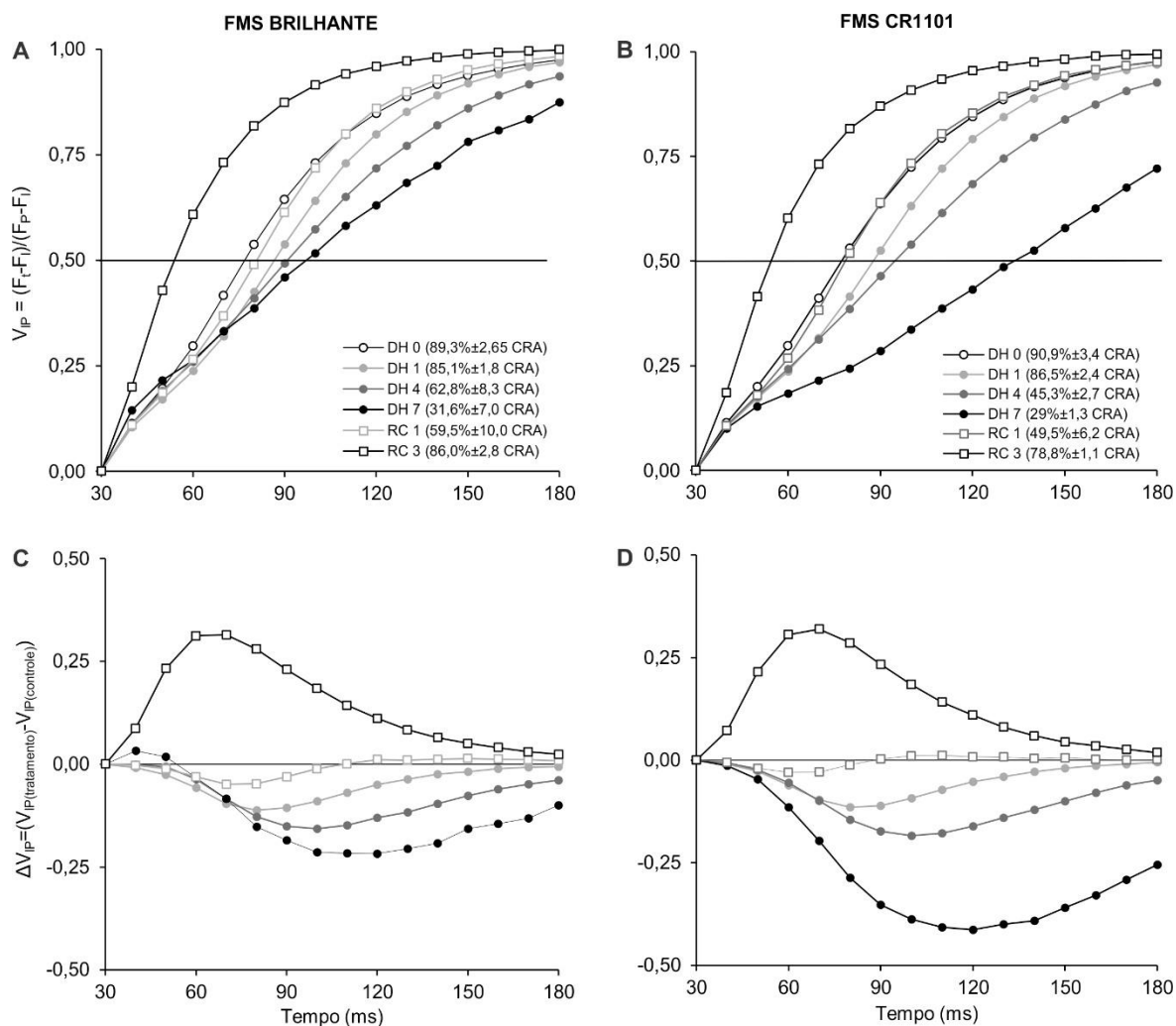


Figura 6 – Fluorescência transiente da clorofila *a* entre o passo I e P em folhas de *C. abyssinica*, cultivar FMS Brilhante (A e C) e linhagem FMS CR1101 (B e D), adaptadas ao escuro sob condições de estresse hídrico progressivo e recuperação. (A e B) fluorescência variável entre os pontos I e P [$V_{IP}=(F_t-F_i)/(F_P-F_i)$]. (C e D) Diferença cinética de V_{IP} [$\Delta V_{IP}=V_{IP(\text{tratamento})}-V_{IP(\text{controle})}$]. Os valores são médias, $n = 10$.

do que aqueles observados em FMS Brilhante a partir do DH 4 (Fig. 4D). Durante o período de reidratação das plantas, a amplitude das bandas L e K de ambos os materiais diminuiram gradualmente, retornando a valores próximos aos observados em DH 0 (Fig. 4C e 4D).

A normalização dos dados entre F_0 (20 μ s) e F_i (30 ms), apresentada como $V_{OI} = (F_t - F_0)/(F_i - F_0)$ e $\Delta V_{OI} = V_{OI(\text{tratamento})} - V_{OI(\text{controle})}$, evidenciou um aumento gradual da fase O - I com o déficit hídrico atingindo os maiores valores no DH 7 (Fig. 5A, 5B, 5E e 5F). Comparativamente à cultivar FMS Brilhante, a linhagem FMS CR1101 apresentou valores de V_{OI} mais elevados no DH 7 (Fig. 5B). Durante o período de

reidratação das plantas, V_{OI} retornou gradualmente aos valores próximos aos obtidos em DH 0.

A avaliação da fase I-P foi realizada por meio de duas análises: a) a análise da fluorescência normalizada entre F_0 e F_I compreendidos no intervalo de tempo entre 30-300 ms, ou seja, $V_{OI} > 1$ (Fig. 5C e 5D) e b) a análise da normalização do transiente entre os pontos I e P, dado por V_{IP} e pela diferença cinética ΔV_{IP} (Fig. 6). Para FMS Brilhante e FMS CR1101, a curva normalizada $V_{OI} > 1$ diminuiu gradualmente com o déficit hídrico. No entanto, observou-se que em DH 7 os valores de V_{OI} diferiram entre os materiais analisados, sendo menores para a linhagem FMS CR1101. Durante o período de reidratação, V_{OI} elevou-se, gradualmente, até atingir valores consideravelmente altos em RC 3 (Fig. 5C e 5D). A fluorescência entre F_I e F_P é apresentada como V_{IP} e ΔV_{IP} no intervalo de tempo entre 30 e 180 ms (Fig. 6). V_{IP} diminuiu gradualmente conforme o período de déficit hídrico se prolongava, sendo o menor valor observado em FMS CR1101 no DH 7 (Fig. 6B). Com a reidratação das plantas, aumentos da amplitude da curva V_{IP} em ambos os materiais analisados foram observados atingindo os maiores valores ao final do experimento (RC 3).

A amplitude negativa de ΔV_{IP} aumentou com o déficit hídrico, sendo mais evidente em FMS CR1101 (Fig. 6C e 6D). Por outro lado, após o período de reidratação (RC 3) houve o aparecimento de bandas de amplitudes positivas tanto na cultivar como na linhagem (Fig. 6C e 6D).

4.4 – Parâmetros do teste JIP

Após 7 dias de déficit hídrico, observou-se redução no rendimento quântico máximo do fotossistema II ou ϕ_{P0} (0,39 e 0,48 em FMS Brilhante e FMS CR1101, respectivamente) e aumento significativo em Dl_0/RC em ambos os materiais avaliados (Fig. 7 A-B e 7 C-D). No entanto, durante o período de reidratação, os materiais genéticos analisados apresentaram recuperação total para ambos os parâmetros. Além disso, não houve, durante o experimento, diferença entre a cultivar e a linhagem para esses parâmetros.

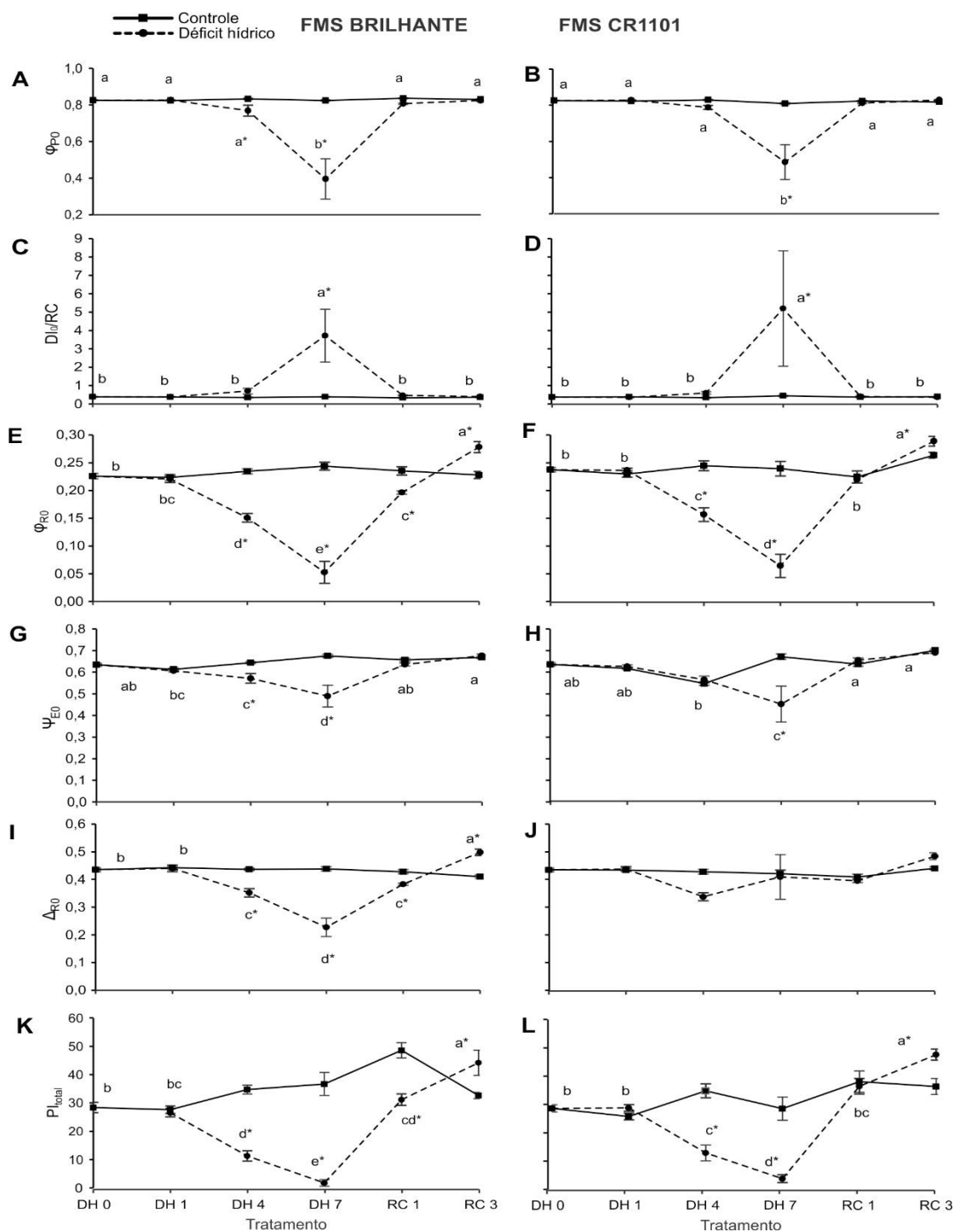


Figura 7 – Parâmetros do teste JIP em folhas de *C. abyssinica*. A primeira coluna corresponde aos resultados encontrados em FMS Brilhante e a segunda coluna em FMS CR1101. A e B - Rendimento quântico máximo para a fotoquímica primária (ϕ_{P0}). C e D - Fluxo de energia dissipada por centro de reação ativo (Dl_0/RC). E e F - Rendimento quântico de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI por fóton absorvido (ϕ_{R0}). G e H - Probabilidade de que um éxciton capturado mova um elétron além da Q_A^- (ψ_{E0}). I e J) Eficiência com que um elétron se mova a partir do intersistema para o receptor de elétrons do FSI (Δ_{R0}). K e L - Índice de desempenho fotoquímica a partir da excitação até a redução dos aceptores finais de elétrons do FSI ($P_{I_{total}}$). As siglas DH correspondem aos dias após o início da imposição ao déficit hídrico e RC aos dias após o início da reidratação. Os valores são médias (\pm erro padrão). As letras representam a diferença estatística entre os dias e o asterisco (*) entre os tratamentos (Tukey 5%), $n = 10$.

Durante o período de supressão hídrica, a redução observada nos parâmetros que medem o rendimento quântico da redução dos aceptores finais de elétrons do PSI (ϕ_{R0}), a eficiência com que um elétron se move após Q_A^- (ψ_{E0}) e a eficiência com que um elétron proveniente do intersistema reduz o aceptor de elétrons final do FSI (Δ_{R0}) foi maior na cultivar FMS Brilhante comparativamente à linhagem FMS CR1101 (Fig. 7 E-J). Além disso, os valores de ϕ_{R0} e ψ_{E0} recuperaram-se de maneira mais rápida em FMS CR1101 durante o período de reidratação. Observou-se, também, que nesta linhagem, Δ_{R0} não se alterou significativamente, tanto no período de déficit hídrico quanto na recuperação.

O índice de desempenho fotoquímico PI_{total} decresceu igualmente nos materiais analisados durante a imposição do estresse hídrico atingindo valores próximos de zero aos 7 dias de supressão hídrica (Fig. 7K e 7L). No entanto, no período de reidratação, observou-se rápida elevação em PI_{total} na linhagem FMS CR1101, atingindo valor semelhante ao controle já no primeiro dia de reidratação (RC 1). No último dia de reidratação, ambos os materiais apresentaram valores de PI_{total} acima daqueles obtidos para o tratamento controle (Fig. 7K e 7L).

4.5 – Produção de matéria seca e área foliar

De forma geral, a condição de déficit hídrico resultou em reduções significativas na produção de biomassa em ambos, cultivar e linhagem (Tabela 1). No entanto, sob déficit hídrico, a produção de matéria seca da raiz (MSR) foi significativamente maior na cultivar FMS Brilhante (Tabela 1). A redução de matéria seca da parte aérea (MSA), matéria seca total (MST) e área foliar (AFO) foi similar entre cultivar e linhagem.

Tabela 1– Produção de matéria seca e área foliar em folhas de *Crambe abyssinica* cultivar FMS Brilhante e linhagem FMS CR1101 após 7 dias de estresse hídrico e reidratação.

	MSA (g.planta ⁻¹)		MSR (g.planta ⁻¹)		MST (g.planta ⁻¹)		AFO (m ² .planta ⁻¹)	
	CT	DH	CT	DH	CT	DH	CT	DH
FMSBR	7,376 a	1,412 b	9,638 a	2,626 a*	17,014 a	4,038 b	127,6 a	14,4 b
FMSCR	7,812 a	1,324 b	9,212 a	1,724 b*	17,024 a	3,048 b	109,9 a	11,6 b

FMSBR = Cultivar FMS Brilhante, FMSCR = Linhagem FMS CR1101, MSA = matéria seca da parte aérea, MSR = matéria seca da raiz, MST = matéria seca total, AFO = Área foliar, CT = Controle, DH = Tratamento de déficit hídrico. Valores referem-se as médias. Letras representam a diferença estatística entre os tratamentos e o asterisco (*) diferença entre os materiais analisados (Tukey 5%), $n = 5$.

5 – DISCUSSÃO

Durante o experimento, as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram características morfológicas de murcha e queda de folhas, sintomas comuns em plantas submetidas a esse tipo de estresse. A supressão da irrigação durante os 7 dias causou a morte de 15% das plantas da cultivar FMS Brilhante e 10% das plantas da linhagem FMS CR1101.

A diminuição da disponibilidade de água no solo durante a imposição do déficit hídrico sobre as plantas de crambe causou redução significativa na condutância estomática (g_s), resultante da redução da abertura estomática. O fechamento estomático é uma das primeiras respostas das plantas ao déficit hídrico, pois reduz a perda de água por meio da transpiração (CLAEYS; INZÉ, 2013; LAWSON; BLATT, 2014). Desse modo, o rápido decréscimo de g_s observado para as plantas da linhagem FMS CR1101 já no DH 4 sugere uma resposta preventiva para diminuir a perda de água dos tecidos foliares.

As diferenças observadas nos valores de CRA entre a cultivar FMS Brilhante e a linhagem FMS CR1101 sugerem uma melhor manutenção do *status* hídrico foliar em FMS Brilhante nos primeiros dias de deficiência hídrica, o que pode estar relacionado ao maior crescimento radicular observado para este cultivar (Tabela 1). Um maior crescimento radicular possibilita a absorção de água de zonas mais profundas do solo (KAGE et al., 2004). Segundo Kooyers (2015), o investimento no crescimento radicular representa uma estratégia eficiente de determinadas espécies

e cultivares para evitar as condições de déficit hídrico. Ao estudar as variáveis morfológicas de quatro cultivares de cana-de-açúcar expostas ao déficit hídrico, Holanda et al. (2015), verificaram que as cultivares que apresentaram menor investimento no crescimento radicular foram as mais suscetíveis ao déficit hídrico. Além disso, a diminuição do crescimento da parte aérea acompanhada pela relativa alocação de matéria seca nas raízes é indicativo de uma estratégia adaptativa para diminuir a desidratação durante o período de déficit hídrico (KOOYERS, 2015; WAGHORN et al., 2015). Assim, os resultados relacionados com a produção de matéria seca sugerem que a cultivar FMS Brilhante prioriza o crescimento radicular em resposta ao déficit hídrico.

A presença de curvas O-J-I-P com comportamento polifásico característico revelou que, sob condição de déficit hídrico, todas as amostras avaliadas encontravam-se fotossinteticamente ativas (STRASSER; STRASSER, 1995). O transiente O-J-I-P representa a sucessiva redução dos transportadores de elétrons associados aos fotossistemas durante as reações que compreendem a etapa fotoquímica da fotossíntese. A fase O-J está relacionada com os eventos de redução da quinona A (Q_A) (STRASSER; STRASSER, 1995; LAZÁR, 2004). A fase J-I envolve os eventos de redução dos transportadores de elétrons do intersistema como a quinona B (Q_B), plastoquinona (PQ), complexo citocromo b6f (Cyb6f) e plastocianina (PC). A fase I-P está relacionada com a redução dos aceptores finais de elétrons no FSI como a ferredoxina (Fd) e NADP (YUSUF et al., 2010). O decréscimo na curva da fluorescência e a supressão das fases O-J-I-P observados no último dia de restrição hídrica são indicadores da ocorrência de bloqueios parciais ou totais do fluxo de energia na cadeia transportadora de elétrons fotossintética (MEHTA et al., 2010). No presente estudo, notou-se que estes resultados foram mais evidentes para a cultivar FMS Brilhante em DH 7.

A observação da diferença da fluorescência relativa variável entre F_O e F_P (ΔV_t) evidenciou uma variação acentuada da fluorescência no DH 7 em relação ao controle, em ambos os materiais genéticos. Após sete dias de supressão hídrica, a cultivar FMS Brilhante foi caracterizada por um incremento significativo nos valores de ΔV_t apenas na fase J-I (Fig. 3E). Por outro lado, na linhagem FMS CR1101, a supressão hídrica pelo período de sete dias causou efeitos significativos nas fases O-J e J-I (Fig. 3F). Esses resultados são indicativos da ocorrência de danos significativos nos

carreadores de elétrons do intersistema na cultivar FMS Brilhante. Por outro lado, os danos observados para a linhagem FMS CR1101 foram mais amplos, atingindo desde os eventos de redução da Q_A até os eventos de redução do intersistema. Em ambos os materiais genéticos, observou-se a redução da amplitude de ΔV_t na fase I-P, especialmente em FMS CR1101 (Fig. 3E e 3F). Resultado semelhante foi descrito por Gomes et al.(2012), em plantas de maracujá expostas às condições de déficit hídrico. Segundo os autores, tal resultado é um indicativo de um maior *pool* de aceptores finais de elétrons do FSI após a imposição do déficit hídrico e sugere um incremento na eficiência com que um elétron é transferido para o lado acceptor do FSI.

A banda L é um indicador da conectividade ou agrupamento das unidades do FSII. Desvios positivos da banda L refletem o decréscimo na conectividade energética entre as unidades do FSII (OUKARROUM et al., 2007; TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008). Neste estudo, todas as plantas analisadas apresentaram um aumento gradativo da amplitude positiva da banda L durante o período de déficit hídrico, indicando que o déficit hídrico diminuiu a estabilidade das subunidades independentes do FSII causando distúrbios na conectividade energética (CHEN; CHENG, 2010) (Fig. 4A e 4B). Tal distúrbio foi mais evidente na linhagem FMS CR1101 (Fig. 4B). No entanto, após o período de reidratação os valores de ΔV_{OK} (Banda L) se recuperaram nos dois materiais genéticos. Segundo Strasser et al. (2004), a recuperação do ΔV_{OK} está relacionada com a tolerância das plantas ao déficit hídrico pois uma alta conectividade entre as unidades do FSII resulta numa utilização mais eficiente da energia de excitação e maior estabilidade do sistema.

A banda K relaciona-se com o lado doador de elétrons do FSII e, quando positiva, pode indicar a inativação do complexo de evolução do oxigênio (CEO) (YUSUF et al., 2010). Neste cenário, a transferência de elétrons do CEO para a P_{680} é mais lenta do que a transferência de elétrons da P_{680} para a Q_A (JIANG et al., 2008). Todas as plantas apresentaram aumento nos valores da banda K (Fig. 4C e 4D). Porém, a linhagem FMS CR1101 apresentou os maiores valores no último dia de supressão hídrica (Fig. 4D). Após a reidratação, as bandas L e K diminuíram gradativamente sugerindo a ocorrência de recuperação dos danos causados ao CEO e à transferência de energia entre as subunidades do FSII tanto na cultivar quanto na linhagem. Os resultados obtidos a respeito das bandas K e L sugerem maior habilidade em manter a atividade do CEO e a estabilidade energética para a cultivar FMS Brilhante

comparativamente à linhagem FMS CR1101. Apesar disso, tanto a cultivar como a linhagem apresentaram recuperação nos valores das bandas K e L, o que pode sugerir a ocorrência de mecanismos de tolerância ao déficit hídrico bem eficientes em ambos os materiais.

Os dados de fluorescência duplamente normalizados entre O-I (V_{OI}) e sua diferença cinética são utilizados para distinguir a sequência de eventos a partir captura de energia de excitação pelo FSII até a redução dos carregadores de elétrons do intersistema (YUSUF et al., 2010) (Fig. 5A, 5B, 5E e 5F). Os dados obtidos sugerem que em FMS CR1101 o transporte de elétrons até o intersistema foi mais prejudicado do que em FMS Brilhante.

A normalização das curvas $V_{OI} > 1$ (Fig. 5C e 5D) permite a avaliação da sequência de eventos do transporte de elétrons a partir da plastoquinona reduzida (PQH_2) até os aceptores finais de elétrons do FSI (YUSUF et al., 2010). Nesta normalização, a área formada entre o eixo do tempo e a curva de fluorescência entre F_I e F_P corresponde ao tamanho do *pool* de aceptores finais reduzidos pelo FSI (REDILLAS et al., 2011). A diminuição da amplitude das curvas, observada neste trabalho, em função da restrição hídrica indica um declínio no tamanho do *pool* de receptores do FSI, sendo que em DH 7 a linhagem FMS CR1101 apresentou um declínio maior do que FMS Brilhante (Fig. 5C e 5D). No entanto, durante o período de reidratação das plantas, houve um aumento no tamanho do *pool* de aceptores do FSI em ambos os materiais (Fig. 5C e 5D).

A normalização V_{IP} (Fig. 6A e 6B) permite a dedução do comportamento do fluxo de elétrons provenientes do intersistema até os receptores finais do FSI. Os dados de V_{IP} apresentaram um comportamento hiperbólico, conforme descrito pela equação de Michaelis-Menten (MICHAELIS; MENTEN, 1913). De acordo com Yusuf et al. (2010), o inverso do tempo para atingir $V_{IP} = 0,5$ é uma estimativa da taxa de redução global dos receptores finais de elétrons do FSI. Os resultados obtidos no presente estudo revelam que no período de maior estresse (DH 7) houve a diminuição na velocidade de redução do *pool* de aceptores finais do FSI. Esses resultados tornam-se evidentes na análise da diferença cinética ΔV_{IP} (Fig. 6C e 6D). As amplitudes das curvas ΔV_{IP} são indicadores da taxa de redução dos aceptores finais do FSI. Nessa análise, as amplitudes positivas determinam uma rápida redução do *pool* de aceptores finais do

FSI. Por outro lado, amplitudes negativas determinam reduções menos aceleradas do *pool* de aceptores finais do FSI (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011).

Neste estudo, foi possível notar que a supressão hídrica diminui gradualmente a velocidade da taxa de redução global dos aceptores finais do FSI. Por outro lado, para as plantas reidratadas, menor tempo para a redução dos aceptores finais do FSI foi requerido. No último dia de déficit hídrico, a linhagem FMS CR1101 apresentou a menor velocidade de redução global do *pool* de aceptores de elétrons do FSI. Aliado a isso, observou-se que em FMS CR1101, a eficiência com que um elétron se move a partir do intersistema para o acceptor final de elétrons do FSI (Δ_{R0}) permaneceu praticamente inalterado durante todo o experimento. Em um estudo conduzido por Redillas et al. (2011), que avaliaram a tolerância ao déficit hídrico em plantas de arroz transgênicos, aquelas consideradas mais tolerantes ao déficit hídrico apresentaram as maiores amplitudes negativas na fase I-P. A diminuição da amplitude da fase I-P parece ser uma resposta típica das plantas em algumas situações de estresse considerando-se o aumento da eficiência com que um elétron é transferido até o lado acceptor do FSI (YUSUF et al., 2010). Esses resultados sugerem que na linhagem FMS CR1101, o fluxo de elétrons após a PQH₂ foi menos sensível ao déficit hídrico do que o fluxo entre a Q_A e PQH₂.

A análise de $V_{OI}>1$, V_{IP} e ΔV_{IP} , coletivamente, ilustra os efeitos do estresse hídrico sobre as taxas de redução e sobre o tamanho do *pool* de aceptores finais de elétrons na região do FSI. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a regulação da redução dos aceptores finais do FSI é independente da regulação do tamanho do *pool* de aceptores do FSI. Resultado semelhante foi encontrado por Yusuf et al. (2010) em plantas transgênicas de *Brassica juncea* expostas ao estresse salino, metais pesados e estresse osmótico. Tais resultados podem evidenciar mecanismos que, de acordo com Schock et al. (2014) e Campos et al. (2014), aumentam a atividade do FSI, como o fluxo cíclico de elétrons ao redor do FSI ou a reação de Mehler. A importância desses mecanismos está na redução da foto-oxidação por meio do direcionamento dos elétrons para outras rotas evitando a formação de espécies reativas de oxigênio ao mesmo tempo que proporcionam a força motriz necessária para a produção de ATP (ASADA, 1999; MUNEKAGE et al., 2004; MIYAKE, 2010; NISHIYAMA et al., 2011; ROBERTY et al., 2014; OUKARROUM et al., 2015). Além disso, o fluxo cíclico de elétrons acidifica o lúmen dos tilacóides, induzindo a

dissipação térmica da energia luminosa por meio do ciclo das xantofilas (JOLIOT; JOLIOT, 2006; ZIVCAK et al., 2013; DONG et al., 2014). Os resultados obtidos sugerem que esses mecanismos atuaram mais eficientemente na linhagem FMS CR1101 comparativamente à cultivar.

Tanto a cultivar quanto a linhagem apresentaram aumento dos valores da fluorescência inicial (F_0) conforme o déficit hídrico progredia. Aumentos em F_0 estão relacionados à diminuição da taxa de energia capturada pelo FSII e podem ser atribuídos à diminuição do número de CR ativos resultante da menor transferência de energia dos complexos coletores de luz do FSII (LHCII) para os CR's, uma consequência da dissociação do complexo LHCII do núcleo do FSII ou da inativação do complexo de evolução do oxigênio (YAMANE et al., 1997; LIN et al., 2009; GHOTBI-RAVANDI et al., 2014). Os resultados obtidos para as banda K e L, sugerem que o aumento de F_0 pode ser atribuído tanto à inativação do CEO como também à diminuição da conectividade energética entre as subunidades do FSII. O decréscimo em F_M acompanhado pelo aumento de F_0 em DH 7 pode refletir mecanismos de dissipação energética não fotoquímicos, como o ciclo das xantofilas (GILMORE et al., 1996; JAHNS; HOLZWARTH, 2012).

O aumento no fluxo de energia dissipada por CR, Dl_0/RC , observado em DH 7, acompanhado da diminuição da condutância estomática (g_s) sugere a atuação de um mecanismo de dissipação de energia em resposta a redução da assimilação de CO_2 . Resultado semelhante foi encontrado por Martinazzo et al. (2011), ao avaliar a atividade fotossintética em pêssegos híbridos (*Prunusdulcis* Mill. X *Prunuspersica* L. Bastsch) submetidos ao déficit hídrico e alagamento. Esses autores argumentaram que a diminuição do fluxo de energia na cadeia transportadora de elétrons em resposta à menor disponibilidade de CO_2 para as reações bioquímicas da fotossíntese é um mecanismo que regula o estresse oxidativo e previne a fotoinibição crônica.

Além disso, o aumento de F_0 , juntamente com o decréscimo de F_M , causou a diminuição de ϕ_{P0} (F_V/F_M) durante o DH 7 nos dois materiais avaliados. A diminuição de ϕ_{P0} durante uma condição de estresse é considerado como indicador de danos no FSII (BAKER; ROSENQVIST, 2004; LIN et al., 2009). No entanto, como durante o período de reidratação houve a recuperação de F_0 , F_M e ϕ_{P0} , a fotoinibição observada pode ser considerada como uma adaptação positiva causada pela regulação dos

mecanismos fotoquímicos e pelos mecanismos fotoprotetores como a dissipação energética não fotoquímica, transição de estado, fluxo cíclico de elétrons ao redor do FSI ou ainda o ciclo água-água (MUNEKAGE et al., 2004; MIYAKE, 2010; ROCHAIX, 2011; KEREN; KRIEGER-LISZKAY, 2011; RAVEN, 2011; DUFFY et al., 2013). Tais mecanismos previnem a super-redução da cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese e diminuem a potencialidade de eventuais danos causados pelo estresse oxidativo (CARVALHO, 2008; NISHIYAMA et al., 2011; KALAJI et al., 2011; CAMPOS et al., 2014).

O índice de desempenho fotossintético, PI_{total} , demonstrou ser mais sensível ao déficit hídrico do que o ϕ_{P0} . A baixa sensibilidade do ϕ_{P0} ao déficit hídrico é documentado em alguns trabalhos (Van HEERDEN et al., 2007; GHOTBI-RAVANDI et al., 2014; JEDMOWSKI et al., 2014). A baixa sensibilidade do ϕ_{P0} ao déficit hídrico ocorre por que o cálculo deste parâmetro considera apenas os valores de fluorescência respectivos à F_0 e F_M . Por outro lado, PI_{total} é um parâmetro que responde à cinética da fluorescência entre os dois extremos F_0 e F_M . Assim, seu cálculo considera todas as etapas da fluorescência transiente O-J-I-P (Van HEERDEN et al., 2007). Deste modo, a diminuição de ϕ_{P0} é esperado apenas em situações de estresse hídrico severo, conforme pôde ser observado no DH 7 em ambos os materiais estudados. Por outro lado, os valores de PI_{total} apresentaram redução significativa já no DH 4.

O parâmetro PI_{total} é um indicador da vitalidade da planta e segundo Yusuf et al. (2010), é considerado o parâmetro do Teste JIP mais sensível ao déficit hídrico, pois incorpora em seu cálculo parâmetros relacionados com a conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII (ABS), captura da energia de excitação (TR) e conversão da energia de excitação para o transporte de elétrons para o intersistema (ET) e a redução dos aceptores finais do FSI (RE). No presente estudo, PI_{total} foi utilizado como o parâmetro fisiológico definitivo da tolerância das plantas de crambe ao déficit hídrico.

Apesar de a cultivar FMS Brilhante ter apresentado a melhor estabilidade e conectividade energética do FSII, a linhagem FMS CR1101 apresentou uma recuperação nos valores de PI_{total} em relação ao seu controle já no primeiro dia de reidratação (Fig. 7L). Os dados relacionados com a atividade fotoquímica do FSI (ΔV_{IP} , ΔR_0 , ϕ_{R0} e ψ_{E0}) sugerem que a recuperação mais acelerada dos valores de PI_{total} em

FMS CR1101, durante a reidratação, foi atribuída à melhor atividade fotoquímica do FSI durante o déficit hídrico na linhagem. Dessa forma, apesar das plantas da cultivar FMS Brilhante terem apresentado maior crescimento radicular e melhor atividade fotoquímica ao redor do FSII, o incremento da atividade fotoquímica do FSI durante o déficit hídrico sugere menor sensibilidade das reações da etapa fotoquímica da fotossíntese na linhagem FMS CR1101.

6 – CONCLUSÕES

1 - Os materiais genéticos avaliados apresentam tolerância ao déficit hídrico e recuperam-se com a reidratação. No entanto, ambos apresentam respostas distintas ao déficit hídrico.

2 - A cultivar FMS Brilhante apresenta uma melhor manutenção do *status* hídrico foliar, maior acúmulo de matéria seca na raiz e melhor estabilidade e funcionalidade do FSII durante o déficit hídrico.

3 - O aumento da atividade fotoquímica ao redor do FSI, observada na linhagem FMS CR1101, confere a esta tolerância ao déficit hídrico.

7 – REFERÊNCIAS

- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 50, p. 601–639, 1999.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1607–1621, 2004.
- BARRS, H. D.; WEATHERLEY, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, p. 413–428, 1962.
- CAMPOS, H.; TREJO, C.; PEÑA-VALDIVIA, C. B.; et al. Photosynthetic acclimation to drought stress in *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings is largely dependent on thermal dissipation and enhanced electron flux to photosystem I. **Photosynthesis research**, v. 122, p. 23–39, 2014.
- CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species. **Plant Signal Behav**, v. 3, p. 156–165, 2008.
- CHAVES, M. M. How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. **Annals of Botany**, v. 89, n. 7, p. 907–916, 2002.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551–60, 2009.
- CHAVES, M.; MAROCO, J.; PEREIRA, J. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239–264, 2003.
- CHEN, L. S.; CHENG, L. The acceptor side of photosystem II is damaged more severely than the donor side of photosystem II in “Honeycrisp” apple leaves with zonal chlorosis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, p. 253–261, 2010.
- CHEN, S.; KANG, Y.; ZHANG, M.; WANG, X.; STRASSER, R. J.; ZHOU, B.; QIANG, S. Differential sensitivity to the potential bioherbicide tenuazonic acid probed by the JIP-test based on fast chlorophyll fluorescence kinetics. **Environmental and Experimental Botany**, v. 112, p. 1–15, 2015.
- CLAEYS, H.; INZÉ, D. The Agony of Choice: How Plants Balance Growth and Survival under Water-Limiting Conditions. **Plant physiology**, v. 162, p. 1768–79, 2013.
- COLODETTI, T. V.; MARTINS, L. D.; RODRIGUES, W. N. Crambe: aspectos gerais da produção agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 258–269, 2012.

DONG, L.; TU, W.; LIU, K.; SUN, R.; LIU, C.; WANG, K.; YANG, C. The PsbS protein plays important roles in photosystem II supercomplex remodeling under elevated light conditions. **Journal of Plant Physiology**, v. 172, p. 33–41, 2014.

DUFFY, C. D. P.; VALKUNAS, L.; RUBAN, A. V. Light-harvesting processes in the dynamic photosynthetic antenna. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 15, p. 18752–70, 2013.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, v. 6, p. 269–279, 2004.

GHOTBI-RAVANDI, A. A.; SHAHBAZI, M.; SHARIATI, M.; MULO, P. Effects of Mild and Severe Drought Stress on Photosynthetic Efficiency in Tolerant and Susceptible Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. **Journal of Agronomy and Crop Science**, p. 403–415, 2014.

GILMORE, A. M.; HAZLETT, T. L.; DEBRUNNER, P. G.; GOVINDJEE. Comparative time-resolved photosystem II chlorophyll *a* fluorescence analyses reveal distinctive differences between photoinhibitory reaction center damage and xanthophyll cycle-dependent energy dissipation. **Photochemistry and photobiology**, v. 64, p. 552–563, 1996.

GOLZ, T. Crambe. In: Dwight Aakre (Ed.); **Alternative Agriculture Series**, 1993. Nort Dakota State University Extension Service.

GOMES, M. T. G.; DA LUZ, A. C.; DOS SANTOS, M. R.; BATITUCCI, M. C. P.; SILVA, D. M.; FALQUETO, A. R. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll *a* fluorescence transient. **Scientia Horticulturae**, v. 142, p. 49–56, 2012.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 378–386, 2010.

HOLANDA, L. A. DE; SANTOS, C. M.; SAMPAIO NETO, G. D.; SOUSA, A. DE P.; SILVA, M. DE A. Variáveis morfológicas da cana-de-açúcar em função do regime hídrico durante o desenvolvimento inicial. **IRRIGA**, v. 19, p. 573, 2015.

JAHNS, P.; HOLZWARTH, A. R. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, n. 1, p. 182–93, 2012.

JASPER, S. P.; ANTÔNIO, M.; BIAGGIONI, M.; ROBERTO, P.; SILVA, A. Comparação do custo de produção do Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) com outras culturas oleaginosas em sistema de plantio direto. **Revista Energia na Agricultura**, v. 25, p. 141–153, 2010.

JEDMOWSKI, C.; BAYRAMOV, S.; BRÜGGEMANN, W. Comparative analysis of drought stress effects on photosynthesis of Eurasian and North African genotypes of wild barley. **Photosynthetica**, v. 52, p. 564–573, 2014.

JIANG, H.-X.; CHEN, L.-S.; ZHENG, J.-G.; HAN, S.; TANG, N.; SMITH, B. R. Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in Citrus leaves assessed by the chlorophyll *a* fluorescence transient. **Tree Physiology**, v. 28, p. 1863–1871, 2008.

JOLIOT, P.; JOLIOT, A. Cyclic electron flow in C3 plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1757, p. 362–368, 2006.

KAGE, H.; KOCHLER, M.; STÜTZEL, H. Root growth and dry matter partitioning of cauliflower under drought stress conditions: Measurement and simulation. **European Journal of Agronomy**, v. 20, p. 379–394, 2004.

KALAJI, H. M.; BOSA, K.; KOŚCIELNIAK, J.; ŻUK-GOŁASZEWSKA, K. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. **Environmental and Experimental Botany**, v. 73, p. 64–72, 2011.

KEREN, N.; KRIEGER-LISZKAY, A. Photoinhibition: molecular mechanisms and physiological significance. **Physiologia Plantarum**, v. 142, p. 1–5, 2011.

KOOYERS, N. J. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. **Plant Science**, v. 234, p. 155–162, 2015.

KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 1991.

LAWSON, T.; BLATT, M. R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. **Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 1556–70, 2014.

LAZÁR, D. The O-K-J-I-P Chlorophyll *a* Fluorescence Transient: Theory and Experiments. **Habilitation Thesis**, 2004. Palacký University.

LAZZERI, L.; LEONI, O.; CONTE, L.; PALMIERI, S. Some technological characteristics and potential uses of *Crambe abyssinica* products. **Industrial Crops and Products**, v. 3, p. 103–112, 1994.

LEPPIK, E.; WHITE, G. Preliminary assessment of *Crambe* germplasm resources. **Euphytica**, v. 24, n. 37, p. 681–689, 1975.

LI, X.; LOO, E. N. VAN; GRUBER, J.; et al. Development of ultra-high erucic acid oil in the industrial oil crop *Crambe abyssinica*. **Plant Biotechnology Journal**, v. 10, p. 862–70, 2012.

LI, Z. G.; GONG, M. Mechanical stimulation-induced chilling tolerance in tobacco suspension cultured cells and its relation to proline. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60, p. 149–154, 2012.

LIN, Z.-H.; CHEN, L.-S.; CHEN, R.-B.; ZANG, F.-Z.; JIANG, H.-X.; TANG, N. CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. **BMC Plant Biology**, v. 9, p 1-12, 2009.

MARTINAZZO, E. G.; PERBONI, A. T.; FARIAS, M. E.; BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A. Photosynthetic activity in the rootstock of hybrid peach trees submitted to water restriction and flooding. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 3, p. 231–236, 2011.

MARTINS, L. D.; COSTA, F. P.; LOPES, J. C. Light influence on seed germination of Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst.). **Nucleus**, v. 8, n. 1, p. 405–412, 2011.

MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll *a* fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 16–20, 2010.

MICHAELIS, L.; MENTEN, M. L. The Kinetics of Invertase Action. **Biochemistry**, v. 49, n. February, p. 333–369, 1913.

MIYAKE, C. Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. **Plant & cell physiology**, v. 51, n. 12, p. 1951–63, 2010.

MUNEKAGE, Y.; HASHIMOTO, M.; MIYAKE, C.; TOMIZAWA, K.-I.; ENDO, T.; TASAKA, M.; SHIKANAI, T. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. **Nature**, v. 429, n. 6991, p. 579–82, 2004.

NISHIYAMA, Y.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; MURATA, N. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. **Physiologia Plantarum**, v. 142, n. 1, p. 35–46, 2011.

OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAUJO, J. D.; LOURENÇO, S. (Coord.). Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Brasília, EMBRAPA-SEA, 1991, 392p.

OPLINGER, E. S.; OELKE A. R.; KAMISKI A. R.; PUTNAM D. H.; TEYNOR T. M.; DOLL, J. D.; KELLING K. A.; DURGAN B. R.; NOELTZ, D. M. Crambe: alternative field crops manual. Purdue University, 1991. Disponível em: <https://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/flax.html>

OUKARROUM, A.; BUSSOTTI, F.; GOLTSEV, V.; KALAJI, H. M. Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 80–88, 2015.

OUKARROUM, A.; EL MADIDI, S.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 438–446, 2007.

OUKARROUM, A.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiologia plantarum**, v. 137, n. 2, p. 188–99, 2009.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 3, p. 869–82, 2011.

PITOL, C. **Cultura do crambe**. 2008.

PITOL, C.; ROSCOE, R.; ERBES, E. J.; ROMEIRO, T. DA S.; SANTOS, J. F. DOS. Cultura do Crambe: Resultados e Experimentação. In: F. MS (Ed.); **Tecnologia e Produção: Milho Safrinha e Culturas de Inverno 2012**. p.145–150, 2012. Maracajú-MS: Fundação MS.

POU, A.; MEDRANO, H.; TOMÀS, M.; MARTORELL, S.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J. Anisohydric behaviour in grapevines results in better performance under moderate water stress and recovery than isohydric behaviour. **Plant and Soil**, v. 359, n. 1-2, p. 335–349, 2012.

RAVEN, J. A. The cost of photoinhibition. **Physiologia plantarum**, v. 142, n. 1, p. 87–104, 2011.

REDILLAS, M. C. F. R.; STRASSER, R. J.; JEONG, J. S.; KIM, Y. S.; KIM, J.-K. The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. **Plant Biotechnology Reports**, v. 5, n. 2, p. 169–175, 2011.

ROBERTY, S.; BAILLEUL, B.; BERNE, N.; FRANCK, F.; CARDOL, P. PSI Mehler reaction is the main alternative photosynthetic electron pathway in *Symbiodinium sp.*, symbiotic dinoflagellates of cnidarians. **The New phytologist**, v. 204, n. 1, p. 81–91, 2014.

ROCHAIX, J. D. Regulation of photosynthetic electron transport. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1807, n. 3, p. 375–83, 2011.

SCHOCK, A. A.; RAMM, A.; MARTINAZZO, E. G.; SILVA, D. M.; BACARIN, M. A. Crescimento e fotossíntese de plantas de pinhão-mansão cultivadas em diferentes condições de luminosidade. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, v. 18, p. 3–9, 2014.

SOUZA, R. P.; MACHADO, E. C.; SILVA, J. A. B.; LAGÔA, A. M. M. A.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, n. 1, p. 45–56, 2004.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology**, v. 104, n. 1-2, p. 236–57, 2011.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: P. Mathis (Ed.); **Photosynthesis: from Light to Biosphere**. p.977–980, 1995. Springer Netherlands.

STRASSER, R. J.; MICHAEL, M. T.-; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient. In: G.;Govindje. Papageorgiou (Ed.); **Advances in Photosynthesis and Respiration Chlorophyll Fluorescence a Signature of Photosynthesis**. p.321 – 362, 2004. Kluwer Academic Publishers

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: M. P. Yunus M, Pathere U (Ed.); **Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adptation**. p.445–483, 2000. London: Taylor and Francis.

TEIXEIRA, R. N.; TOLEDO, M. Z.; FERREIRA, G.; CAVARIANI, C.; JASPER, S. P. Germinação e vigor de sementes de crambe sob estresse hídrico. **Irriga**, v. 16, n. 1, p. 42–51, 2011.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo Assessment of Stress Impact on Plant's Vitality: Applications in Detecting and Evaluating the Beneficial Role of Mycorrhization on Host Plants. In: A. Varma (Ed.); **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**. p.679–703, 2008. Dordrecht: Springer.

VAN-HEERDEN, P. D. R.; SWANEPOEL, J. W.; KRÜGER, G. H. J. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C3-mode CO₂ assimilation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, n. 2, p. 124–136, 2007.

VARGAS-LOPEZ, J. M.; WIESENBORN, D.; TOSTENSON, K.; CIHACEK, L. Processing of crambe for oil and isolation of erucic acid. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, n. 7, p. 801–809, 1999.

VARISCO, M. R.; SIMONETTI, A. P. M. M. Germinação de sementes de crambe sob influencia de diferentes substratos e fotoperíodos. **Acta Iguazu**, v. 1, n. 2, p. 36–46, 2012.

VOLLMANN, J.; RUCKENBAUER, P. Agronomic performance and oil quality of crambe as affected by genotype and environment. , v. 44, n. 4, p. 335–343, 1993.

WAGHORN, M. J.; WHITEHEAD, D.; WATT, M. S.; MASON, E. G.; HARRINGTON, J. J. Growth , biomass , leaf area and water-use efficiency of juvenile *Pinus radiata* in response to water deficits. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v. 45, n. 3, 2015.

WANG, Z. X.; CHEN, L.; AI, J.; QIN, H. Y.; LIU, Y. X.; XU, P. L.; JIAO, Z. Q.; ZHAO, Y.; ZHANG, Q. T. Photosynthesis and activity of photosystem II in response to drought stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.). **Photosynthetica**, v. 50, n. 2, p. 189–196, 2012.

WASEEM, M.; ALI, A.; TAHIR, M.; NADEEM, M. A.; AYUB, M.; TANVER, A.; AHMAD, R.; HUSSAIN, M. Mechanisms of drought tolerance in plant and its management through different methods. **Continental Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 1, p. 10–25, 2011.

WERNER, E. T.; LOPES, J. C.; JUNIOR, D. G.; LUBER, J.; DO AMARAL, J. A. T. Accelerated aging test to evaluate the quality of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst - Brassicaceae) seed physiology. **Idesia**, v. 31, n. 1, p. 35–43, 2013.

WILSON, P. J.; THOMPSON, K.; HODGSON, J. G. Specific leaf area and dry leaf matter content as alternative predictors of plant strategies. **The New phytologist**, v. 143, p. 155–162, 1999.

YAMANE, Y.; KASHINO, Y.; KOIKE, H.; SATOH, K. Increases in the fluorescence F(o) level and reversible inhibition of photosystem II reaction center by high-temperature treatments in higher plants. **Photosynthesis Research**, v. 52, p. 57–64, 1997.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE.; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic Brassica juncea plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1797, p. 1428–1438, 2010.

ZIVCAK, M.; BRESTIC, M.; BALATOVA, Z.; DREVENAKOVA, P.; OLSOVSKA, K.; KALAJI, H. M.; YANG, X.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Photosynthetic electron transport and specific photoprotective responses in wheat leaves under drought stress. **Photosynthesis research**, v. 117, n. 1-3, p. 529–46, 2013.

ZUSHI, K.; KAJIWARA, S.; MATSUZOE, N. Chlorophyll *a* fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 148, p. 39–46, 2012.